

UNIVERZITA KARLOVA
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Sabina Tomášková

**Stanovení hořčíku v potravinových doplncích technikami
atomové spektrometrie**

Determination of magnesium in food supplements by atomic
spectrometry techniques

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Jakub Hraníček, Ph.D.

Praha, 2017

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu, je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze, 22. května 2017

Sabina Tomášková

Poděkování

Ráda bych na tomto místě poděkovala RNDr. Jakubu Hraníčkovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a vstřícnost při konzultacích během zpracovávání této bakalářské práce.

Abstrakt

Tato bakalářská práce je zaměřena na stanovení hořčíku v běžně dostupných potravinových doplncích pomocí vybraných spektrometrických analytických metod – atomová absorpční spektrometrie a atomová emisní spektrometrie. Analyzovány byly následující potravinové doplňky: Calibrium 50 Plus, Centrum s multi-efektem, Magnesii lactici, Spektrum 50+, Supradyn a Hemofin. V rámci této práce byla nalezena vhodná úprava vzorků pro jejich převedení do roztoku, dále u obou metod byly nalezeny optimální podmínky pro stanovení hořčíku. Optimalizovanými parametry byla výška paprsku nad hranou hořáku, průtoková rychlost paliva, šířka spektrálního intervalu a poloha hořáku. Pomocí atomové absorpční spektrometrie byl hořčík stanoven v plameni acetylen-vzduch. Pomocí atomové emisní spektrometrie byl hořčík stanoven v plameni acetylen-oxid dusný. Meze stanovitelnosti se pohybovaly pro uvedené metody následovně: 6,11 $\mu\text{g/l}$ (69,5 $\mu\text{g/l}$) pro polohu hořáku 0° (90°) v případě atomové absorpční spektrometrie a 64,8 $\mu\text{g/l}$ v případě atomové emisní spektrometrie pro polohu hořáku 0°. V případě obou měření byly provedeny dva způsoby stanovení. V prvním případě byly měřeny roztoky standardů a vzorků bez přidavku pomocných činidel pro potlačení interferencí. V druhém případě již byla přidána pomocná činidla do roztoků standardů i vzorků. Výsledky stanoveného množství hořčíku byly po přidavku pomocných činidel převážně vyšší, což bylo pravděpodobně způsobeno omezením vlivu interferencí. Získané výsledky stanovení byly statisticky zpracovány a porovnány s množstvím uvedeným výrobcem potravinového doplňku. Obě použité metody poskytly výsledky, které se velmi dobře shodovaly s hodnotami obsahu hořčíku deklarovanými výrobcem na obalu. Metody atomová absorpční spektrometrie a atomová emisní spektrometrie se tedy dají pokládat za vhodné metody pro stanovení hořčíku v pevných vzorcích doplňků stravy.

Klíčová slova

Hořčík, potravinový doplněk, atomová absorpční spektrometrie, atomová emisní spektrometrie, rozklad vzorku.

Obsah

1	ÚVOD	- 7 -
1.1	Cíl bakalářské práce	- 7 -
2	TEORETICKÁ ČÁST	- 8 -
2.1	Charakteristika hořčíku	- 8 -
2.2	Výskyt v přírodě	- 8 -
2.3	Zdroj hořčíku	- 9 -
2.3.1	Potraviny	- 9 -
2.3.2	Potravinové doplňky	- 9 -
2.4	Vliv hořčíku na zdraví člověka	- 10 -
2.4.1	Hypomagnezémie	- 10 -
2.4.2	Hypermagnezémie	- 10 -
2.5	Metody stanovení hořčíku	- 11 -
2.5.1	Gravimetrie	- 11 -
2.5.2	Komplexometrie	- 11 -
2.5.3	Izotachoforéza	- 12 -
2.5.4	Fluorimetrie	- 12 -
2.5.5	Potenciometrie s iontově selektivní elektrodou	- 13 -
2.5.6	Atomová absorpční spektrometrie	- 13 -
2.5.7	Atomová emisní spektrometrie	- 15 -
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	- 17 -
3.1	Charakteristika vzorků	- 17 -
	Centrum s multi-efektem	- 17 -
	Magnesii lactici	- 17 -
	Spektrum 50+	- 17 -
	Supradyn	- 18 -
	Hemofin	- 18 -
3.2	Příprava vzorků k analýze	- 18 -
3.3	Atomová absorpční spektrometrie, atomová emisní spektrometrie	- 19 -
3.3.1	Aparatura	- 19 -
3.3.2	Chemikálie	- 20 -
3.3.3	Pracovní postup AAS	- 20 -
3.3.4	Pracovní postup AES	- 21 -
3.4	Statistické zpracování	- 22 -
4	VÝSLEDKOVÁ ČÁST A DISKUZE	- 24 -
4.1	Atomová absorpční spektrometrie (AAS)	- 24 -
4.1.1	Optimalizace podmínek měření	- 24 -
4.1.2	Základní charakteristiky	- 27 -
4.2	Atomová emisní spektrometrie (AES)	- 29 -
4.2.1	Optimalizace podmínek měření	- 29 -
4.2.2	Základní charakteristiky	- 31 -
4.3	Stanovení hořčíku ve vzorcích potravinových doplňků	- 33 -
4.3.1	Metoda AAS	- 33 -
4.3.2	Metoda AES	- 34 -
4.3.3	Shrnutí a porovnání výsledků	- 36 -
5	ZÁVĚR	- 38 -
6	POUŽITÁ LITERATURA	- 39 -

Seznam uvedených zkratk a symbolů

AAS	Atomová absorpční spektrometrie
AES	Atomová emisní spektrometrie
ATP	Adenosintrifosfát
EDTA	Ethylendiamintetraoctová kyselina
ICP	Indukčně vázané plazma
ISE	Iontově selektivní elektroda
MS	Hmotnostní spektrometrie
OES	Optická emisní spektrometrie
PVC	Polyvinylchlorid
RSD	Relativní směrodatná odchylka
SD	Směrodatná odchylka
VDK	Výbojka s dutou katodou
β	Celková konstanta stability
λ	Vlnová délka [nm]

1 ÚVOD

Pod latinským názvem Magnesium, česky hořčík, se skrývá prvek, který je pro lidské tělo nepostradatelným minerálem. V podstatě lze říci, že žádná buňka v lidském těle by bez hořčíku nemohla plnit svou správnou funkci. V dnešní době mají lidé na výběr, jak ve svém těle zajistit dostatek tohoto minerálu. Jednou z možností je přijímání hořčíku v každodenní potravě, druhou možností je přijímání hořčíku v podobě potravinového doplňku. Pro zjištění množství hořčíku v takovém potravinovém doplňku lze použít mnoho analytických metod, jejichž výsledky lze vzájemně porovnávat. V rámci této bakalářské práce byly vybrány dvě spektrometrické analytické metody, konkrétně atomová absorpční spektrometrie a atomová emisní spektrometrie.

1.1 Cíl bakalářské práce

Hlavním cílem této práce bylo zjištění obsahu hořčíku ve vybraných potravinových doplncích pomocí atomové absorpční a atomové emisní spektrometrie.

Pro splnění hlavního cíle této práce bylo postupně nutné:

- u obou analytických metod nalézt optimální podmínky měření pro stanovení hořčíku s cílem dosáhnout optimální citlivosti stanovení. Optimalizována byla především výška paprsku nad hranou hořáku, průtoková rychlost paliva a šířka spektrálního intervalu,
- zjistit základní charakteristiky optimalizovaných analytických metod (AAS i AES) pomocí dvou způsobů měření (bez přídavku pomocných činidel a s přídavkem pomocných činidel),
- nalézt vhodný způsob převedení pevných vzorků do roztoků (bylo vyzkoušeno rozpouštění ve vodě za pokojové i zvýšené teploty a rozpouštění varem v prostředí zředěné kyseliny dusičné).

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Charakteristika hořčíku

Hořčík [latinsky Magnesium] je řazen do 2. skupiny periodické soustavy prvků s chemickou značkou Mg a protonovým číslem 12, patří tedy mezi kovy s nízkými excitačními a ionizačními potenciály¹. V historii byl tento prvek užíván jako oxid hořečnatý starověkými lékaři v Řecku ve městě Magnesia, což pravděpodobně dalo prvku toto latinské pojmenování. Objev hořčíku je připisován skotskému chemikovi jménem Joseph Black, který žil v 18. století. Během působení na věhlasných univerzitách v Glasgow a Edinburgu jako první rozeznával vápenatou a hořečnatou zeminu, tedy oxid hořečnatý². Jeho práce byla základním stavebním kamenem pro první připravení hořčíku jako chloridu hořečnatého, kterým se zasloužil Sir Humphry Davy v roce 1805 (cit. ^{3,4}).

Dnes již známe hořčík jako bělošedý kov s relativní atomovou hmotností 24,3. Je řazen mezi kovy alkalických zemin a běžně se vyskytuje v oxidačním stavu II jako hořečnatý kation Mg^{2+} . Nebude-li dále v textu uvedeno jinak, je pod výrazem „stanovení hořčíku“ myšleno právě stanovení jeho dvoumocného kationtu. V kovové formě je hořčík široce využíván v dopravním průmyslu pro výrobu součástí do automobilů i letadel. Z chemického hlediska se jedná o kov, který je poměrně velmi reaktivní a příprava slitin spolu s dalšími kovy musí být prováděna v ochranné atmosféře s obsahem inertních plynů. V medicíně je hořčík využíván na výrobu biomateriálů, kde je naopak jeho reaktivita výhodou. Díky jeho reaktivitě se může v lidském těle snadno odbourávat, lékařsky řečeno biodegradovat. Hořčík není pro lidské tělo významně toxický a běžně se používá také jako součást léků či potravinových doplňků^{5,6}.

2.2 Výskyt v přírodě

Jak již bylo v předchozí kapitole řečeno, hořčík je poměrně reaktivním kovem, proto se v přírodě vyskytuje pouze ve sloučeninách. Uvádí se, že v zemské kůře je šestým nejzastoupenějším prvkem. Nejvíce bychom ho v přírodě našli jako chlorid hořečnatý v mořské vodě, kde je hořčík po sodíku nejvíce zastoupeným kationtem. Společně s vápníkem je hořčík nejčastější příčinou tvrdosti vod. Celkem bylo popsáno 900 minerálů, které obsahují hořčík. V tabulce 2.1 jsou seřazeny nejvýznamnější z nich podle klesajícího obsahu hořčíku. Z biologického hlediska se hořčík vyskytuje ve struktuře chlorofylu, který je významnou složkou všech zelených rostlin se schopností fotosyntézy⁵.

Tab. 2.1 Nejvýznamnější přírodní minerály obsahující hořčík

Název minerálu	Chemická značka	Zastoupení hořčíku [%]
Periklas	MgO	60,3
Magnezit	MgCO ₃	28,8
Serpentinit	3MgO·2SiO ₂ ·2H ₂ O	26,3
Dolomit	CaCO ₃ ·MgCO ₃	13,2
Bischofit	MgCl ₂ ·6H ₂ O	12,0
Karnalit	MgCl ₂ ·KCl·6H ₂ O	8,8

2.3 Zdroj hořčíku

2.3.1 Potraviny

Lidé přijímají hořčík převážně v každodenní stravě, nejvíce je ho však obsaženo především v rostlinné potravě právě díky obsahu chlorofylu. Mezi potraviny s vysokým obsahem hořčíku patří především luštěniny, zejména čočka, fazole, hrách a sója. V menších koncentracích se hořčík nachází také v živočišné stravě, kam lze zařadit maso, mléko, sýry i vejce. Malé množství hořčíku obsahuje i ovoce, například jablka, nektarinky, rybíz či borůvky. Většina rostlinných a živočišných tuků již hořčík neobsahuje, stejně tak i destiláty⁵.

2.3.2 Potravinové doplňky

Na našem trhu je dostupný široký výběr potravinových doplňků s multivitaminovým i multiminerálním složením. Všechny znamenají pro lidské tělo umělý zdroj hořčíku. V České republice jsou potravinové doplňky hodnoceny jako doplněk stravy spadající pod vyhlášku 225/2008 Sb. Díky této vyhlášce jsou stanoveny požadavky na doplňky stravy a také povolené sloučeniny, které mohou doplňky obsahovat. Mezi tyto sloučeniny patří například stearan hořečnatý, octan hořečnatý, uhličitan hořečnatý, chlorid hořečnatý, hořečnaté soli kyseliny citrónové, síran hořečnatý a oxid hořečnatý⁷.

2.4 Vliv hořčíku na zdraví člověka

V lidském těle je látková koncentrace hořčíku mezi 600-1150 mmol/l, přičemž asi 53 % z toho je obsaženo v kostech, 46 % ve svazech a měkkých tkáních, a zbylé 1 % obsahuje krev. Významnost hořčíku podporuje fakt, že je po draslíku druhým nejzastoupenějším intracelulárním kationtem. V lidském těle je kofaktorem více než 300 enzymových reakcí, mezi které lze například zařadit funkci $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPázové pumpy. Dále hořčík podporuje srdeční činnost, jelikož se účastní spolu s ATP syntetických reakcí pro funkci myokardu a svalové kontrakce. Dostatek hořčíku pomáhá udržovat tělo v psychické kondici, neboť lidské buňky nadměrně vylučují hořčík při stresových situacích. Při sportu pomáhá udržet fyzickou kondici a předchází křečím končetin, protože se účastní reakcí nezbytných pro tvorbu energie. V neposlední řadě je hořčík prospěšný při bolestech hlavy, trávení a střevní motilitě. Při nedostatečném či naopak nadbytečném příjmu jsou všechny tyto funkce ovlivněny, což může mít řadu příčin a následků^{8,9}.

2.4.1 Hypomagnezémie

Jedná se o stav, kdy je snižená koncentrace celkového sérového hořčíku pod hladinu 0,5 mmol/l. Mezi hlavní příčiny patří především nedostatečná výživa, snížená absorpce vlivem alkoholu, zvracení nebo průjmu, dále stav zvýšeného vylučování, například při enterálním onemocnění. Pozorované klinické příznaky jsou arytmie, zvýšený srdeční tep, pokles ostatních iontů vlivem nesprávné funkce $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPázové pumpy, a především neurologické potíže až psychotické chování⁸.

2.4.2 Hypermagnezémie

Jedná se o stav, kdy je zvýšená koncentrace celkového sérového hořčíku nad hladinu 1,0 mmol/l. Mezi hlavní příčiny patří akutní či chronické selhání ledvin, zvýšený příjem léků obsahujících hořčík nebo dehydratace organismu. Pozorované klinické příznaky jsou pocit nevolnosti až zvracení, snížený srdeční tep a celková slabost⁸.

2.5 Metody stanovení hořčíku

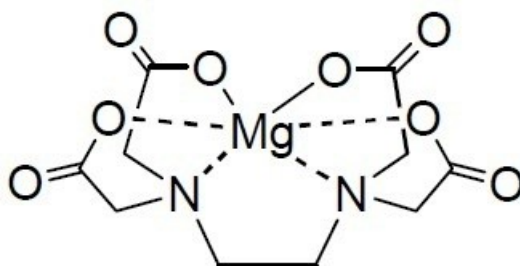
Hořčík lze stanovit různými analytickými metodami, mezi které patří například gravimetrie, komplexometrie, izotachoforéza, fluorimetrie, potenciometrie s iontově selektivní elektrodou (ISE), nebo spektrometrické analytické metody jako je atomová absorpční spektrometrie (AAS) a atomová emisní spektrometrie (AES).

2.5.1 Gravimetrie

Gravimetrie neboli vážková analýza je stanovení, při kterém se analyt ve vzorku sráží vhodným činidlem a vyloučí se ve formě málo rozpustné sraženiny. Vzniklá sraženina se filtrací izoluje, promyje a vysuší do konstantní hmotnosti. Po provedení těchto kroků vznikne přesně chemicky definovaný produkt, ze kterého lze po zvážení při znalosti stechiometrického složení vypočítat koncentraci analytu. Při stanovení hořčíku může být konečným produktem difosforečnan hořečnatý nebo fosforečnan hořečnato-amonný^{10,11}.

2.5.2 Komplexometrie

Komplexometrie je stanovení, při kterém spolu reaguje v poměru 1:1 titrační činidlo (ligand) s analytem (ion kovu) za vzniku komplexní sloučeniny¹⁰. Jedno z nejpoužívanějších odměrných činidel je disodná sůl kyseliny ethylendiaminotetraoctové (EDTA) neboli chelaton III, od kterého je toto stanovení pojmenované chelatometrie. Jako standardní látky jsou používány často čisté kovy. Při titraci vzniká silný komplex, jehož stabilita je definována tabelovanou konstantou stability β . Pro indikaci bodu ekvivalence při titraci jsou používány melatochromní indikátory, což jsou organická barviva, která tvoří s ionty kovů slabé komplexy. Jakmile jsou všechny ionty kovů z roztoku ztitrovány, indikátor se uvolní z vazby s iontem kovu, což se projeví jeho barevnou změnou¹¹. Mezi často používané indikátory patří například murexid, eriochromčern T nebo xylenolová oranž. Vzniklý komplex EDTA-hořčík je znázorněn na Obr. 2.1. Komplexační činidlo EDTA se však v dnešní době používá při stanovení vybraných prvků spíše jak modifikátor komplexních matric při elektrotermické atomizaci u atomové absorpční spektrometrie¹².



Obr. 2.1 – Komplex EDTA–hořčík. Převzato¹³.

2.5.3 Izotachoforéza

Izotachoforéza je stanovení, při kterém se používají dva různé elektrolyty s rozdílnou pohyblivostí iontů. Při separaci kationtů se vzorek vnese mezi vedoucí elektrolyt, jehož kationty mají vyšší pohyblivost, a dále mezi koncový elektrolyt, ve kterém mají kationty nižší pohyblivost než jakýkoliv kation ze vzorku. Vedoucí elektrolyt je na počátku stanovení obsažen v katodovém prostoru a koloně, v anodovém prostoru je koncový elektrolyt. Vyjma separovaných kationtů jsou vždy obsaženy i opačně nabití protiionty, aby byla zachována elektroneutralita v zónách. Po připojení stejnosměrného napětí se vzorek začne dělit podle pohyblivostí svých složek. Rychlejší kationty jsou detekovány dříve a pomalejší se opoždějí. Po určité době se ustanoví rovnováha, ve které se zóny pohybují stálou a všechny stejnou rychlostí, přičemž koncentrace iontu uvnitř zóny je vždy konstantní. Pomocí univerzálního detektoru je poskytnut izotachoregram, který obsahuje závislost zaznamenaného signálu na čase. Informace o kvalitě podává výška zóny a o kvantitě šířka zóny, což znamená, že čím vyšší je obsah hořčíku ve vzorku, tím širší je jeho zóna^{14,15}.

2.5.4 Fluorimetrie

Fluorimetrie je stanovení, při kterém je měřena intenzita fluorescenčního záření, které emituje analyt ve vztahu k intenzitě fluorescenčního záření standardu. Roztok obsahující analyt se osvítl excitačním světlem, které je co nejvíce monochromatické o předepsané vlnové délce. Intenzita emitovaného záření se měří při úhlu 90° vzhledem k excitačním paprskům po průchodu filtrem. Tento filtr propouští zejména záření při vlnové délce fluorescence. Pro laboratorní měření koncentrace hořčíku existují různé druhy látek, například kalcein nebo 8-hydroxychinolin, které fluoreskují spolu s hořečnatými ionty po ozáření při 530 nm^{16,17}.

2.5.5 Potenciometrie s iontově selektivní elektrodou

Rovnovážná potenciometrie je stanovení, při kterém se určuje množství analytu z rovnovážného napětí elektrochemického článku tvořeného indikační elektrodou, která je ponořena do analyzovaného roztoku. Článek je dále tvořen referenční elektrodou, která je spojena s analyzovaným vzorkem solným můstkem. Během tohoto stanovení článkem neteče elektrický proud. V praxi jsou často využívány iontově selektivní elektrody (ISE), které musí mít schopnost vyměňovat s roztokem ideálně jeden druh iontů. Při tomto uspořádání tak probíhají výměnné reakce na rozhraní povrch membrány/roztok, kdy je jedna strana membrány v kontaktu s analyzovaným roztokem a druhá s referenčním roztokem o konstantní koncentraci stanovovaného iontu. U kationtových ISE s růstem koncentrace kationtu roste potenciál. Pro stanovení hořčnatých iontů je používána PVC membrána z různých aktivních komponent. Toto stanovení se využívá například při stanovení tvrdosti vody, kde je hořčík společně s vápníkem hlavní příčinou tvrdosti vody¹¹.

V rámci této bakalářské práce bylo použito pro stanovení hořčíku spektrometrických metod (AAS, AES), které jsou popsány podrobněji dále.

2.5.6 Atomová absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie (AAS) je řazena mezi optické metody a je jednou z široce používaných technik prvkové analýzy. Uvádí se, že pomocí AAS lze stanovovat až 68 různých prvků, zejména kovů, ale i některých polokovů. Samotná analýza se často provádí v roztocích a v závislosti na způsobu atomizace lze dosáhnout až stanovení koncentrace v rozsahu 10^{-1} až 10^2 $\mu\text{g/l}$. Při tomto experimentu byla použita plamenová atomizace, u které se uvádí rozsah koncentrace nižší, tedy v řádu mg/l ¹⁸. Pro měření pomocí AAS je obvykle nutné pevné vzorky předem vhodným způsobem rozložit (mineralizovat)¹⁹. Vzhledem k nízkým excitačním i ionizačním potenciálům hořčíku lze pro stanovení hořčíku běžně používat atomovou absorpční spektrometrii s plamenovou atomizací, jak dokládá řada prací²⁰⁻²⁵. Limity detekce a stanovitelnosti se v jednotlivých pracích mírně liší, v závislosti na typu vzorku a způsobu jeho předúpravy před analýzou.

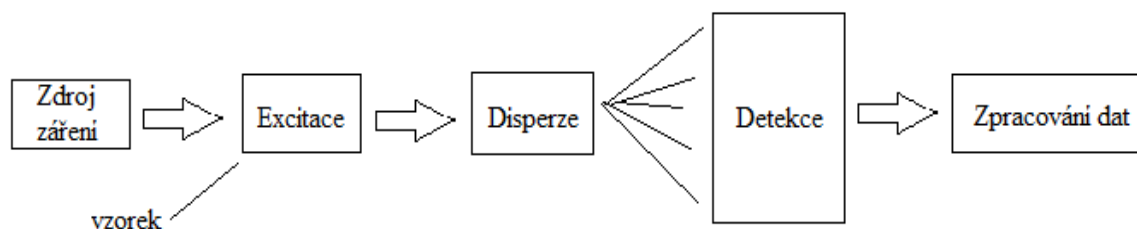
2.5.6.1 Princip metody

Stanovení AAS je založeno na platnosti Lambertova-Beerova zákona, který popisuje vztah mezi absorbancí a koncentrací, pro absorpci záření volnými atomy stanovovaného prvku v plynném stavu. Při absorpci elektromagnetického záření o vhodné energii se analyzovaný atom převede do vyššího energetického stavu. Využívaná spektrální oblast

je v intervalu od 190 až 900 nm. Po absorpci záření dochází k excitaci elektronů z valenční vrstvy, přičemž k analýze se využívají tzv. rezonanční přechody, což jsou přechody mezi základní energetickou hladinou a některou z vyšších hladin. Každý prvek absorbuje pro něj charakteristické záření, které odpovídá energii potřebné k převedení atomu prvku do excitovaného stavu. AAS je metodou srovnávací, stanovení je tedy založeno na porovnání signálů získaných s roztokem vzorku a s roztoky standardů. Složení roztoků standardů se musí blížit složení matrice analyzovaného vzorku^{11,18,26}.

2.5.6.2 Instrumentální uspořádání

Přístroj, na kterém je prováděno stanovení AAS, nazýváme atomový absorpční spektrometr. Skládá se především ze zdroje záření, atomizátoru (absorpční prostředí), monochromátoru a detektoru. Celkové schéma je uvedeno na obrázku 2.2.



Obr. 2.2 Schéma jednopaprskového atomového absorpčního spektrometru. Převzato a zjednodušeno²⁶.

Jako zdroj záření je v AAS typické použití zdrojů záření, které poskytují čárové spektrum. Při tomto experimentu byla použita jako zdroj záření výbojka s dutou katodou (VDK). Jedná se o skleněnou trubici, která je naplněná inertním plynem, na jejímž konci je křemenné okénko prostupné pro emitované vlnové délky. Uvnitř výbojky jsou dvě kovové elektrody. Dutá válečkovitá katoda, která může být vyrobena z čistého stanovovaného kovu nebo z folie ze stanovovaného kovu. Anoda bývá často vyrobena z žáruvzdorných kovů. Na elektrody je vkládáno napětí o velikosti 200 až 600 V, díky kterému se mezi nimi tvoří elektrický výboj, kterým protéká proud o velikosti 3 až 25 mA. Tento výboj obsahuje kladně nabitě ionty plnicího plynu, které jsou elektrickým polem urychlovány směrem ke katodě, a po nárazu s jejím povrchem z něj vyrážejí volné atomy materiálu. Tyto atomy jsou dále srážkami s ionty inertního plynu nebo elektrony excitovány. Při návratu do základního stavu je emitováno záření charakteristické pro materiál katody^{18,26}.

Slovem atomizátor se rozumí zařízení, které je schopné s vyhovující účinností přeměnit stanovovaný prvek v atomovou páru, tedy volné atomy. Atomizátor pracuje

v ustáleném stavu, pokud atomizace probíhá kontinuálně a množství vzniklých atomů je funkcí pouze koncentrace analytu. Mezi atomizací v ustáleném stavu lze zařadit atomizaci v plameni. Při plamenové atomizaci se využívá plamen, pro který je často palivem směs acetylen-vzduch ($T_{\max} = 2500 \text{ K}$) či acetylen-oxid dusný ($T_{\max} = 2900 \text{ K}$). Kapalný vzorek nebo vzorek rozpuštěný v roztoku je zaváděn do plamene pomocí pneumatického zmlžovače, ve kterém dochází k vytvoření aerosolu vzorku. V plameni poté dochází k odpaření vzorku a termickému rozpadu^{18,26}.

Monochromátor je zařízení, které propouští velmi úzkou část spektra, ve kterém se nachází příslušná rezonanční čára sledovaného prvku. Často jsou používány vstupní a výstupní štěrbiny. U atomového absorpčního spektrometru je volba spektrálního intervalu stupňovitá v rozmezí $0,1 - 2,0 \text{ nm}$ ²⁶.

Pro detekci a registraci signálu v AAS je používán převážně fotonásobič, jehož velkou výhodou je citlivost stanovení. Princip fotonásobiče je založen na vnějším fotoelektrickém jevu. Konstrukčně je sestaven z evakuované baňky, která je tvořena fotokatodou, anodou a soustavou dynod. Vstupním okénkem prochází foton registrovaného záření na fotokatodu, ze které uvolní elektrony, které jsou dále urychlovány soustavou dynod pod vloženým elektrickým polem. Z dynody jsou vždy po dopadu elektronu vyraženy sekundární elektrony, čímž se výsledný signál zmnožuje a prošlý proud je registrován mezi katodou a anodou²⁶.

2.5.7 Atomová emisní spektrometrie

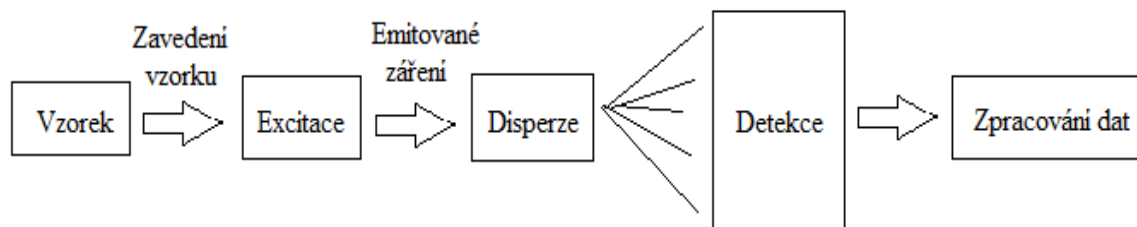
Atomová emisní spektrometrie (AES) je podobně jako AAS řazena mezi optické metody a v literatuře je často uváděna také pod názvem optická emisní spektrometrie (OES). V porovnání s AAS jsou však detekční limity analýzy nižší. V posledních letech byla tato metoda vylepšena novými zdroji excitační energie, například laserem nebo indukčně vázanou plazmou (ICP), což umožnilo spojení s jinými detekčními technikami, například spojení ICP s hmotnostní spektrometrií (MS). Při tomto experimentu byla podobně jako u AAS použita plamenová atomizace²⁶. Nedávno publikovaná práce přináší zajímavý pohled na stanovení hořčíku v matricích s vysokým obsahem solí²⁷. Tento typ matric obecně představuje značný problém při využití techniky ICP-OES vzhledem k možným nestabilitám v plazmovém výboji. Autoři publikace využívají tvorby sraženiny hydroxidu hořečnatého. V publikaci je dosaženo detekčního limitu v řádu jednotek mg/l . Obecně lze shrnout, že ICP výboj je právě pro stanovení hořčíku velmi často používán²⁸.

2.5.7.1 Princip metody

Stanovení AES se zabývá využitím záření, které vysílají volné excitované atomy, popřípadě ionty, které se nacházejí v plynném stavu. Dodáním energie zkoumané látce dochází k její excitaci, ve které je schopna setrvat pouze krátkodobě. Po přechodu do stabilního stavu o chudších energiích je vyzařeno specifické polychromatické nespojité záření. Běžně využívaná spektrální oblast je v rozmezí 165 až 750 nm. Ke kvalitativnímu vyhodnocení je využívána poloha čar ve spektru, tedy jejich vlnová délka. Pro kvantitativní vyhodnocení se již měří intenzita emitovaného záření, které závisí lineárně na koncentraci analytu ve vzorku^{11,18,26}.

2.5.7.2 Instrumentální uspořádání

Přístroj, na kterém je prováděno stanovení AES, nazýváme atomový emisní spektrometr. Zdrojem záření je při tomto uspořádání na rozdíl od AAS samotný vzorek, který je excitován pomocí budícího zdroje. Atomizace a excitace je prováděna v plamenech o stejném složení jako u plamenové AAS, podobně i detekce signálu. Celkové schéma je uvedeno na obrázku 2.3 (cit. ^{11,18}).



Obr. 2.3 Schéma jednopaprskového atomového emisního spektrometru. Převzato a zjednodušeno²⁶.

Při tomto stanovení byla jako budící zdroj energie použita plamenová technika. Excitace v plameni je zdrojem nižší budící energie a lze tímto způsobem excitovat jen některé prvky periodického systému, především alkalické kovy a kovy alkalických zemin. Pro analýzu metodou plamenové AES byl použit přístroj atomové absorpční spektrometrie se štěrbinovým hořákem pro směs acetylen-oxid dusný^{11,18,26}.

Pro detekci a registraci signálu se v AES využívají dva základní způsoby detekce: fotografický, který se dnes již prakticky nepoužívá, a fotoelektrický. Při použití fotoelektrické detekce je v zobrazovací rovině spektra mřížkový monochromátor pro rozklad záření a výstupní štěrbina, za kterou se nachází fotonásobič. Princip fotonásobiče byl již popsán v kapitole 2.5.6.2 instrumentálního uspořádání AAS^{11,26}.

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Charakteristika vzorků

V rámci této bakalářské práce bylo provedeno stanovení hořčíku v následujících potravinových doplncích (viz také Obr. 3.1) po jejich předchozím převedení do roztoku:

Calibrum 50 Plus

Přípravek Calibrum 50 Plus je doporučován především ve stáří při špatném trávení a nedostatečně vyvážené stravě. Může být použit pro zvýšení obsahu vitamínů v těle pro kuřáky, pro ženy užívající antikoncepční přípravky, při infekčních onemocněních, při nadměrné fyzické nebo psychické zátěži. Hořčík je zde zastoupen jako stearan hořečnatý. Přibližná hmotnost tablety je 1,63 g. Obsah hořčíku v tabletě činí 80 mg (4,9 %).

Centrum s multi-efektem

Přípravek Centrum s multi-efektem je doporučován pro podporu energie během dne, funkce imunitního systému a podporu zdraví pokožky, očí a kostí. Může být také použit jako ochrana proti environmentálnímu stresu, který je způsoben znečištěním ovzduší a slunečním zářením. Hořčík je zde zastoupen jako oxid hořečnatý. Přibližná hmotnost tablety je 1,39 g. Obsah hořčíku v tabletě činí 100 mg (7,2 %).

Magnesii lactici

Přípravek Magnesii lactici je doporučován při nedostatku hořčíku v organismu, který může provázet například cukrovka nebo poruchy jaterní funkce. Hořčík je zde zastoupen jako dihydrát magnesium-laktátu a stearan hořečnatý. Přibližná hmotnost tablety je 0,78 g. Obsah hořčíku v tabletě činí 51 mg (6,5 %).

Spektrum 50+

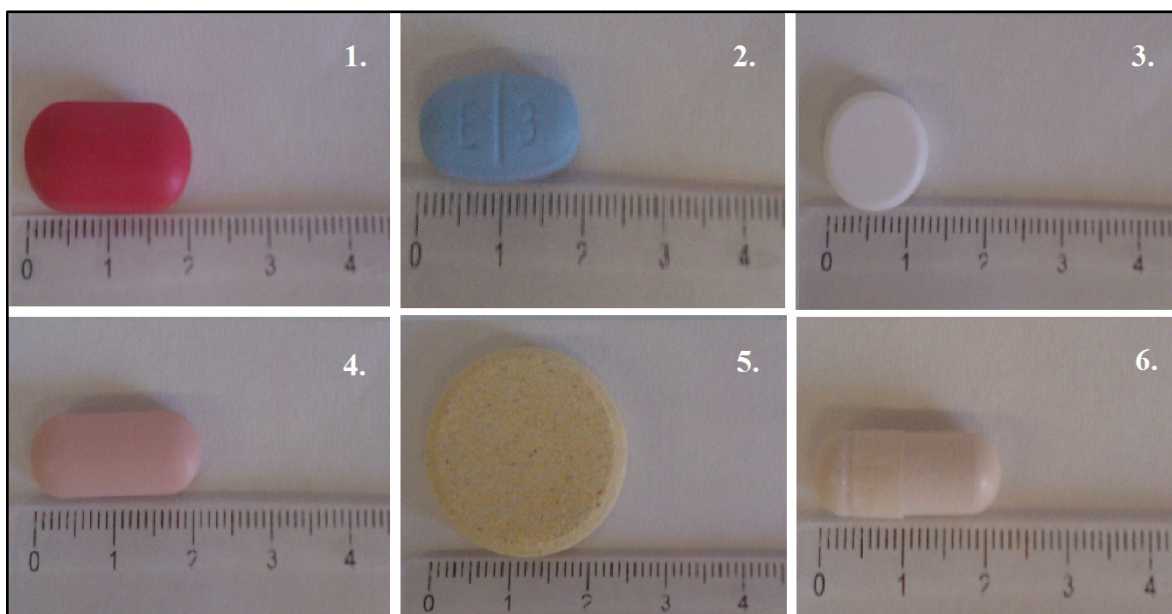
Přípravek Spektrum 50+ je doporučován pro osoby ve věku nad 50 let pro udržení fyzické a duševní vitality během stárnutí, rovnováhy vápníku v organismu a podporu činnosti paměti. Hořčík zde dle příbalového letáku zastoupen není, vzorek byl zařazen do analýzy pro kontrolu jeho výskytu. Přibližná hmotnost tablety je 1,41 g.

Supradyn

Přípravek Supradyn je doporučován pro podporu imunitního systému a správnou funkci metabolismu díky zvýšenému obsahu vitamínu C a vitamínů skupiny B. Hořčík je zde zastoupen jako hydrogenfosforečnan hořečnatý a oxid hořečnatý. Přibližná hmotnost tablety je 4,55 g. Obsah hořčíku v tabletě činí 45 mg (1,0 %).

Hemofin

Přípravek Hemofin je doporučován pro posílení imunity, doplnění hemoglobinu při jeho nedostatku a napomáhá při vstřebávání železa a procesu krvetvorby. Přípravek je určen pro dárce krve jako doplněk stravy. Hořčík je zde zastoupen jako oxid hořečnatý. Přibližná hmotnost tablety je 0,91 g. Obsah hořčíku v tabletě činí 200 mg (22,0 %).



Obr. 3.1 Fotografie tablet analyzovaných potravinových doplňků. Vyfoceno v laboratoři. 1 – Calibrum 50 Plus, 2 – Centrum s multieffektem, 3 – Magnesii lactici, 4 – Spektrum 50+, 5 – Supradyn, 6 – Hemofin.

3.2 Příprava vzorků k analýze

U první sady roztoků vzorků byly všechny tablety zváženy na analytických vahách, rozdrceny pomocí tloučku v třecí misce a opět zváženy. Po zvážení byl vzniklý prášek kvantitativně převeden do cca 50 ml deionizované vody. Pomocí skleněné tyčinky byly roztoky míchány po dobu 5 minut, aby došlo k úplnému rozpuštění prášku. Roztoky vzorků, které stále obsahovaly pevné části přípravku, byly zahřívány k varu po dobu 15 minut pro zlepšení rozpustnosti. Přesto některé roztoky vzorků stále obsahovaly pevné části a nedošlo tak k úplnému rozpuštění tablet do roztoku. Následně po jejich vychladnutí

byly všechny roztoky zfiltrvány a kvantitativně převedeny do 100ml odměrných baněk, které byly doplněny po rysku deionizovanou vodou. Od všech roztoků byl odebrán 1 ml do 100ml odměrných baněk, které byly následně doplněny po rysku deionizovanou vodou. Tímto postupem vznikly roztoky vzorků, které byly 100× zředěné.

Druhá sada roztoků vzorků byla připravena tak, že se všechny tablety bez předchozího drcení přidaly k cca 50 ml 8M kyseliny dusičné a byly zahřívány po dobu 15 minut. Tímto postupem se u všech roztoků podařilo tablety kompletně rozpustit a roztoky tak neobsahovaly pevné části přípravků. Následně po jejich vychladnutí byly všechny roztoky kvantitativně převedeny do 100ml odměrných baněk, které byly doplněny po rysku deionizovanou vodou. Dále byl od všech roztoků odebrán 1 ml do 100ml odměrných baněk, které byly doplněny po rysku deionizovanou vodou. Tímto postupem vznikly roztoky vzorků, které byly 100× zředěné.

3.3 Atomová absorpční spektrometrie, atomová emisní spektrometrie

3.3.1 Aparatura

Měření byla prováděna na spektrometru GBC 933 AA (GBC Scientific Equipment, Australia), ke kterému byl připojen počítač pro vyhodnocování získaných dat. Fotografie spektrometru pořízená v laboratoři je uvedena na Obr. 3.2.



Obr. 3.2 Spektrometr GBC 933 AA pro stanovení technikami AAS a AES. Vyfoceno v laboratoři.

Pro stanovení AAS byla jako zdroj záření použita výbojka s dutou katodou pro stanovení hořčíku a vápníku. Vlnová délka měření byla 285,2 nm a žhavicí proud výbojky byl 5 mA. Stanovení bylo prováděno v plameni acetylen-vzduch. Po provedení optimalizace měření byly stanoveny podmínky takto: šířka spektrálního intervalu 0,5 nm; průtoková rychlost paliva 1,35 l/min; výška paprsku nad horní hranou hořáku 7 mm.

Pro stanovení AES byla nastavena vlnová délka měření na hodnotu 285,2 nm a šířka spektrálního intervalu na 0,2 nm. Stanovení bylo prováděno v plameni acetylen-oxid dusný. Po provedení optimalizace měření byly stanoveny podmínky takto: průtoková rychlost paliva 4,3 l/min; výška paprsku nad horní hranou hořáku 6 mm. Jako slepý vzorek byla použita deionizovaná voda a jako standard o maximální koncentraci 100 mg/l.

3.3.2 Chemikálie

- Zásobní roztok – standardní roztok hořečnatých iontů o koncentraci 1000 mg/l, složení: dusičnan hořečnatý v kyselině dusičné o koncentraci 0,5 mol/l (Merck, Německo)
- Stabilizační roztok pro ředění standardních roztoků (0,24% HNO₃) - k 1000 ml deionizované vody bylo přidáno 5 ml kyseliny dusičné
- Kyselina chlorovodíková 35%, p.a. (Centralchem, Slovensko)
- Kyselina dusičná 65%, p.a. (Lach–Ner s.r.o., Česká republika)
- Dusičnan cesný (Merck, Německo)
- 8–hydroxychinolin (Lach–Ner s.r.o., Česká republika)
- Oxid lanthanitý (Merck, Německo)

Všechny popsané chemikálie byly rozpouštěny v deionizované vodě připravené přístrojem Milli Q_{PLUS} (Millipore, USA).

3.3.3 Pracovní postup AAS

Na začátku stanovení bylo nutné provést optimalizaci podmínek měření pro dosažení co největší citlivosti stanovovaného prvku a minimalizaci interference rušivých složek matrice. Pro optimalizaci podmínek byl připraven roztok o koncentraci 0,5 mg/l hořčíku ze zásobního roztoku o koncentraci 1000 mg/l hořčíku. Během měření byly optimalizovány následující parametry: průtoková rychlost paliva (acetylen), výška paprsku nad hranou hořáku. Dále byla připravena sada roztoků pro zjištění citlivosti metody ze zásobního

roztoku o následujících koncentracích hořčíku: 0,005; 0,010; 0,025; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10; 25; 50 a 100 mg/l. Takto připravené roztoky byly měřeny při různé šířce spektrálního intervalu (0,2; 0,5; 1,0 nm) a při různé poloze hořáku (0°, 90°). Dále byl změřen roztok o koncentraci hořčíku 1,0 mg/l, který byl měřen v závislosti na změně polohy hořáku (90°; 60°; 45°; 30°; 20°; 10°; 0°). Pro stanovení základních charakteristik použité metody byl desetkrát proměřen roztok blanku a roztok o koncentraci hořčíku 0,25 mg/l. Nalezené optimální parametry byly vždy nastaveny pro další měření.

Po optimalizaci metody AAS následovalo měření připravených dvou sad roztoků vzorků. První proměřovaná sada byly tablety rozpuštěné v deionizované vodě. Po změření všech roztoků byl vypočten velmi nízký obsah hořčíku. Tento způsob úpravy vzorků byl tedy nevyhovující pro stanovení a nebyl dále zahrnut do výsledkové části. Druhá sada obsahovala roztoky vzorků, které byly připraveny rozpuštěním tablet v kyselině a deionizované vodě. Pro měření této sady byly použity dva způsoby. Prvním způsobem bylo proměřeno všech 100× zředěných roztoků vzorků bez přidavku pomocných činidel. Slepým vzorkem byla deionizovaná voda. Kalibrační sada roztoků pro tato měření se skládala z koncentrací: 2,5; 5,0; 10 a 25 mg/l. Měření na spektrometru bylo prováděno třikrát, z čehož byla počítačem vypočtena průměrná hodnota signálu a příslušná směrodatná odchylka.

Druhým způsobem bylo proměření všech 100× zředěných roztoků vzorků s přidavkem dvou pomocných činidel (A, B) proti ionizaci analytu. Proměřované roztoky byly připraveny odebráním vždy 10 ml slepého vzorku, standardů a roztoků vzorků. Ke všem takto odebraným vzorkům bylo poté přidáno 200 µl obou pomocných činidel. Činidlo A bylo připraveno rozpuštěním 0,735 g CsNO₃ v 10ml baňce a doplněno po rysku deionizovanou vodou. Činidlo B bylo připraveno postupným rozpuštěním 0,24 g La₂O₃ a 1,02 g 8-hydroxychinolinu ve zředěné HCl. Zředěná HCl byla připravena ředěním 1:1. Kalibrační sada roztoků se skládala z koncentrací: 2,5; 5,0; 10 a 25 mg/l. Slepým vzorkem byla deionizovaná voda. Měření na spektrometru bylo prováděno třikrát, z čehož byla počítačem vypočtena průměrná hodnota signálu a příslušná relativní směrodatná odchylka.

3.3.4 Pracovní postup AES

Na začátku stanovení bylo nutné opět provést optimalizaci podmínek měření pro dosažení co největší citlivosti stanovovaného prvku a minimalizaci interference rušivých složek matrice. Pro optimalizaci podmínek byl připraven roztok 10 mg/l hořčíku

ze zásobního roztoku 1000 mg/l. Během měření byly optimalizovány následující parametry: průtoková rychlost paliva (acetylen), výška paprsku nad hranou hořáku, vhodný rozsah emise. Dále byla připravena sada roztoků pro zjištění citlivosti metody ze zásobního roztoku o následujících koncentracích hořčíku: 0,1; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10; 25; 50 a 100 mg/l. Pro stanovení základních charakteristik použité metody byl desetkrát proměřen roztok blanku a roztok o koncentraci hořčíku 5 mg/l. Nalezené optimální parametry byly vždy nastaveny pro další měření.

Po optimalizaci metody AES následovalo měření připravených vzorků, které byly připraveny rovněž dvěma způsoby jako při stanovení AAS. Postup měření vzorků byl obdobný jako při stanovení AAS a je tedy popsán v kapitole 3.3.3. Slepým vzorkem byla deionizovaná voda. Standard o maximální koncentraci byl použit 100 mg/l. Měření na spektrometru bylo prováděno třikrát, z čehož byla počítačem vypočtena průměrná hodnota signálu a příslušná relativní směrodatná odchylka.

3.4 Statistické zpracování

Při každém opakovaném měření jsou výsledky zatíženy náhodnými chybami, což se projevuje například vychýlením výsledné hodnoty od ostatních hodnot i skutečné správné hodnoty. V této práci bylo měření opakovaně prováděno 3×. Z těchto naměřených hodnot bylo provedeno statistické vyhodnocení, jež obsahovalo následující výpočty¹¹:

Aritmetický průměr (\bar{x}) je odhadem střední hodnoty naměřených výsledků:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

kde x_i je naměřený výsledek a n je počet výsledků.

Odhad směrodatné odchylky (SD) se vypočítá:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

kde x_i je naměřený výsledek a n je počet výsledků.

Mez detekce (LOD) je nejmenší koncentrace analytu vzorku, kterou lze detekovat a rozlišit tak od šumu, ale nemusí být stanovitelná. Vypočítá se jako trojnásobek šumu základní linie:

$$LOD = 3 \cdot SD_{(šum)}$$

Mez stanovitelnosti (LOQ) je nejnížší množství analytu ve vzorku, které může být stanoveno jako exaktní hodnota s předem zadanou nejistotou. Vypočítá se jako desetinásobek šumu základní linie:

$$LOQ = 10 \cdot SD_{(šum)}$$

Směrodatná odchylka šumu základní linie byla vypočítána opakovaným měřením (desetkrát měření stejného vzorku o stejné koncentraci) nízké koncentrace stanovovaného analytu.

Opakovatelnost (O) je charakterizována relativní směrodatnou odchylkou souboru deseti měření vhodné koncentrace:

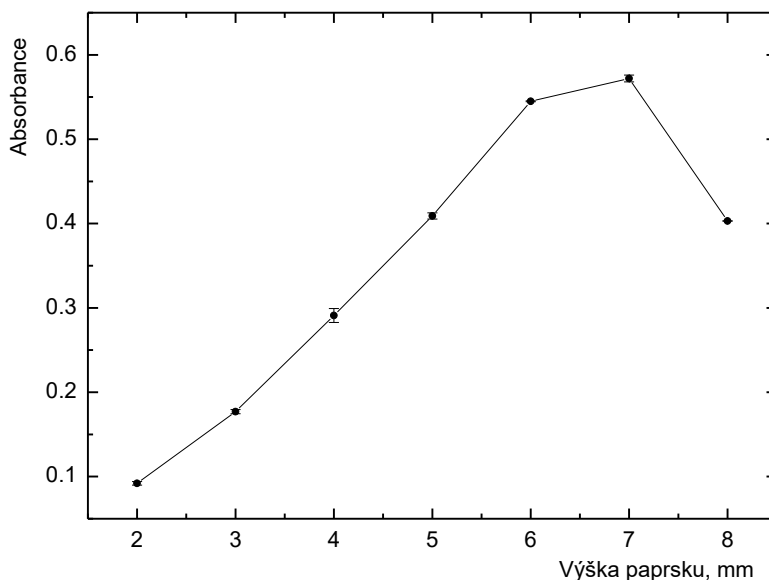
$$O = \frac{SD}{\bar{x}} \cdot 100 (\%)$$

4 VÝSLEDKOVÁ ČÁST A DISKUZE

4.1 Atomová absorpční spektrometrie (AAS)

4.1.1 Optimalizace podmínek měření

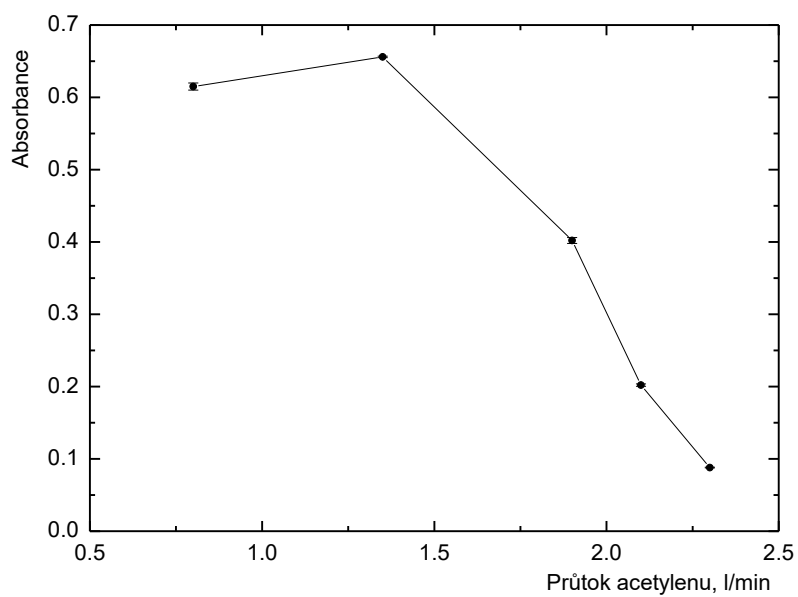
Pro optimalizaci stanovení AAS byl použit roztok o koncentraci 0,5 mg/l hořčíku. Prvním proměřovaným parametrem byla optimální výška paprsku nad horní hranou hořáku. Během třech měření byla zaznamenávána průměrná hodnota signálu při 2; 3; 4; 5; 6; 7 a 8 mm stupnice při průtokové rychlosti acetyleny 0,8 l/min. Nejvyšší signál byl registrován při hodnotě 7 mm stupnice. Získaná data byla graficky zpracována na Obr. 4.1.



Obr. 4.1 Závislost průměrné hodnoty absorbance na změně výšky paprsku nad hranou hořáku.

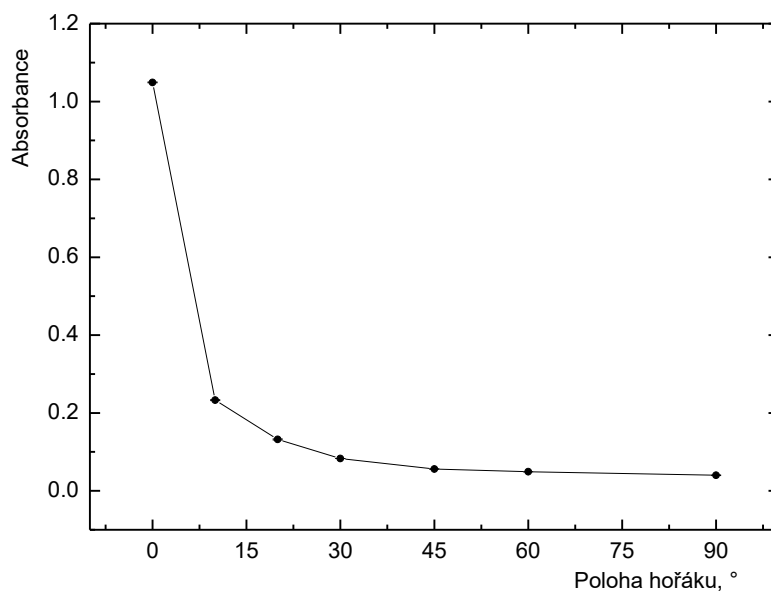
Z obrázku je patrné, že nejvyšší koncentrace volných atomů v základním stavu, upotřebitelných pro absorpci záření, se nacházela ve vzdálenosti 7 mm od hrany hořáku.

Dalším proměřovaným parametrem bylo zjištění optimální průtokové rychlosti acetyleny. Během třech měření byla zaznamenávána průměrná hodnota signálu při průtokové rychlosti paliva 0,8; 1,35; 1,9; 2,1 a 2,3 l/min. Nejvyšší signál byl registrován při průtokové rychlosti paliva 1,35 l/min. Získaná data byla graficky zpracována na Obr. 4.2.



Obr. 4.2 Závislost průměrné hodnoty absorbance na průtoku acetylenu.

Dále byl připraven roztok o koncentraci hořčíku 1,0 mg/l, který byl měřen v závislosti na změně polohy hořáku (90°; 60°; 45°; 30°; 20°; 10°; 0°). Získaná data byla graficky zpracována na Obr. 4.3.

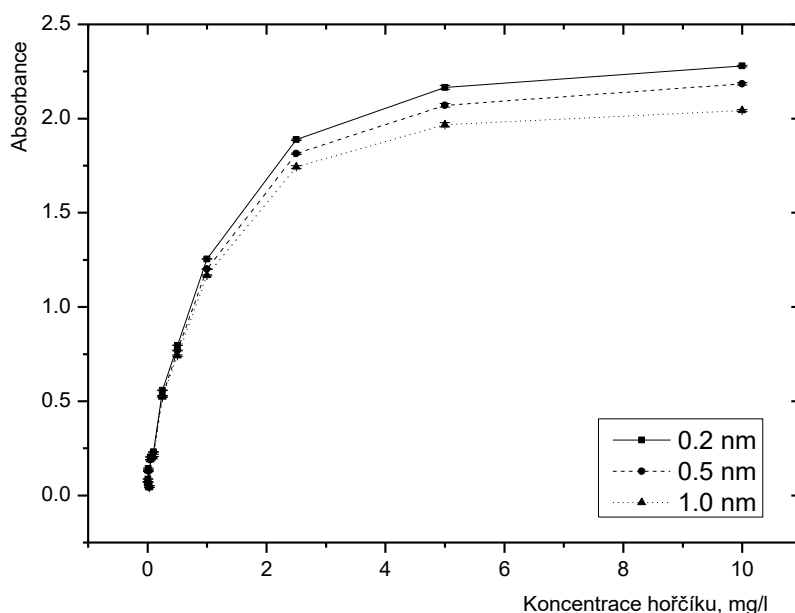


Obr. 4.3 Závislost průměrné hodnoty absorbance na změně polohy hořáku.

Tímto způsobem byla měněna tloušťka absorpčního prostředí, což mělo za následek změnu citlivosti stanovení. Vzhledem k vysoké koncentrací hořčíku v analyzovaných vzorcích bylo snížení citlivosti stanovení žádoucí. Ze změřené závislosti je patrné, že nejvyššího naměřeného signálu bylo dosaženo při poloze hořáku 0° , což byla vodorovná orientace hořáku k paprsku, s maximální (10 cm dlouhou) délkou absorpčního prostředí.

Po zjištění těchto optimálních hodnot byly příslušné parametry nastaveny a následovalo zjištění optimální šířky spektrálního intervalu. Pro toto měření byly použity roztoky o následujících koncentracích hořčíku: 0,005; 0,010; 0,025; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10; 25; 50 a 100 mg/l. Tyto roztoky byly rozděleny na dvě sady.

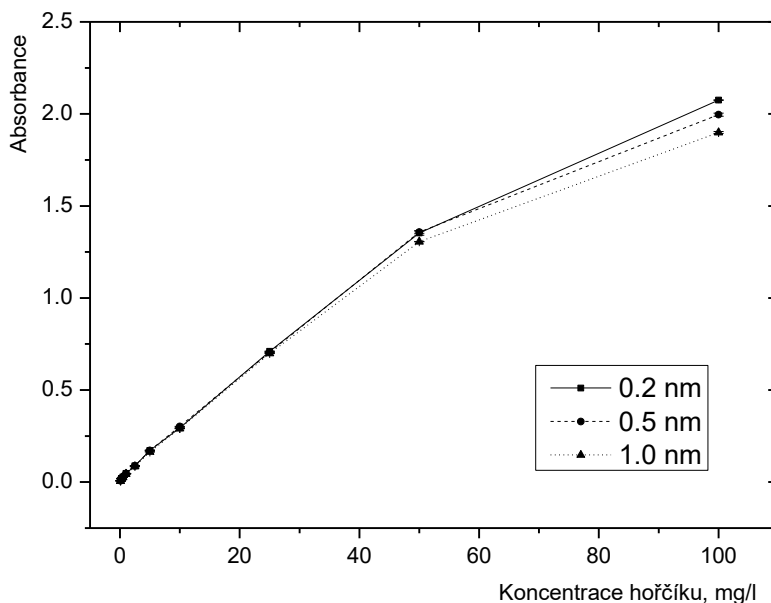
První sada měření se skládala z roztoků o koncentraci 0,005 mg/l až 10 mg/l. Tyto roztoky byly proměřovány za vodorovné orientace hořáku k paprsku (úhel 0°) při různé šířce spektrálního intervalu (0,2; 0,5; 1,0 nm). Získaná data byla graficky zpracována na Obr. 4.4.



Obr. 4.4 Závislost průměrné hodnoty absorbance na koncentraci při změně šířky spektrálního intervalu (úhel 0°).

Z uvedeného experimentu vyplývá, že šířka spektrálního intervalu nemá výrazný vliv na citlivost stanovení hořčíku touto metodou.

Druhá sada měření se skládala z roztoků o koncentraci 0,1 mg/l až 100 mg/l. Tyto roztoky byly proměřovány za kolmé orientace hořáku k paprsku (úhel 90°) při různé šířce spektrálního intervalu (0,2; 0,5; 1,0). Získaná data byla graficky zpracována na Obr. 4.5.

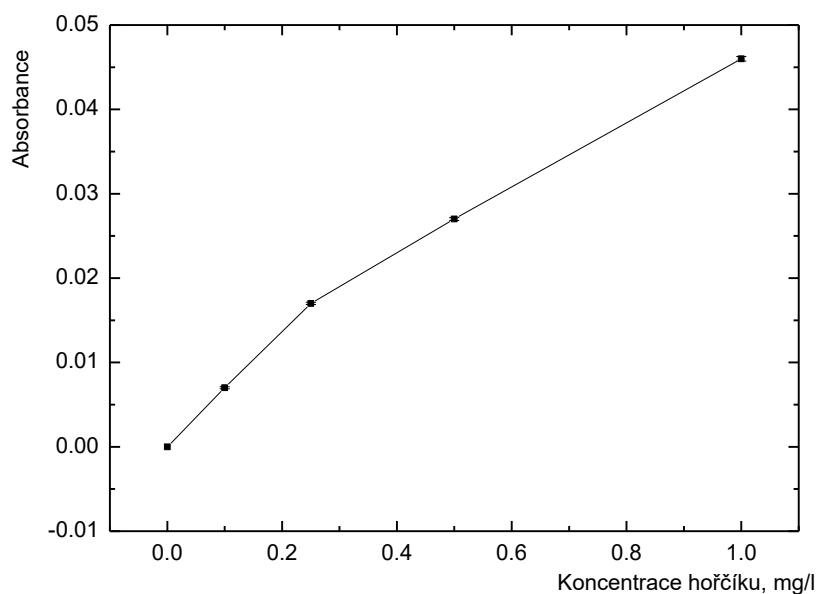


Obr 4.5 Závislost průměrné hodnoty absorbance na koncentraci při změně šířky spektrálního intervalu (úhel 90°).

Na základě prvního (Obr. 4.4) a druhého (Obr. 4.5) měření bylo stanoveno, že optimální šířka spektrálního intervalu pro další měření bude zvolena hodnota 0,5 a úhel otočení hořáku kolmý k paprsku (90°). Tyto zjištěné parametry byly pro další měření vždy nastaveny.

4.1.2 Základní charakteristiky

Pro stanovení základních charakteristik použité metody byla použita kalibrační závislost (Obr. 4.5) proměřena za zjištěných optimálních parametrech, přičemž byla použita její lineární část. Mez detekce (LOD) byla spočtena jako trojnásobek směrodatné odchylky $10\times$ měřeného roztoku 0,25 mg/l a mez stanovitelnosti (LOQ) byla spočtena jako desetinásobek směrodatné odchylky $10\times$ měřeného roztoku 0,25 mg/l. Použitá kalibrační závislost je graficky zpracována na Obr. 4.6. Základní charakteristiky jsou shrnuty v tabulce 4.1.



Obr. 4.6 Kalibrační závislost průměrné hodnoty absorbance na koncentraci hořčíku - lineární část.

Tab. 4.1 Shrnutí základních charakteristik pro metodu stanovení AAS.

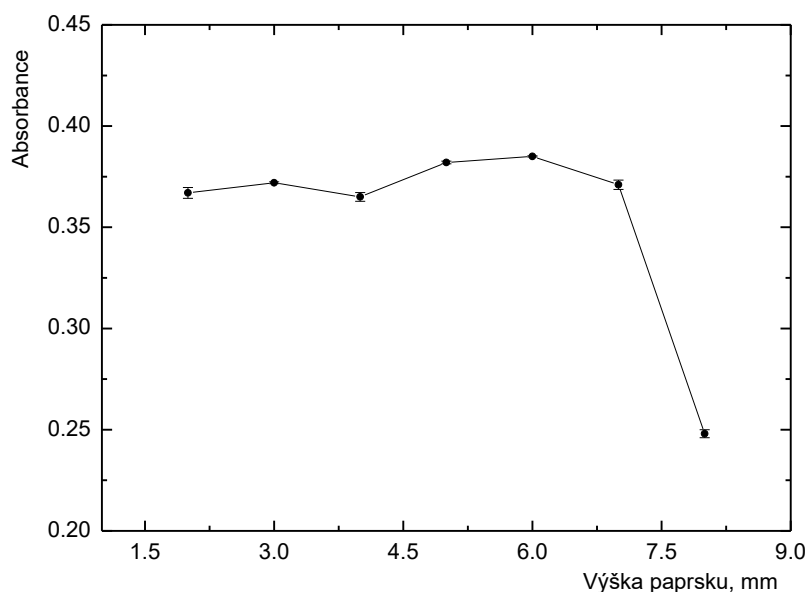
Charakteristika	poloha hořáku 0°	poloha hořáku 90°
Mez detekce (μg/l)	1,83	20,8
Mez stanovitelnosti (μg/l)	6,11	69,5
Citlivost (l/mg)	2,11	0,0752
Opakovatelnost (%)	0,32	2,3
Korelační koeficient	0,9991	0,9983
Lineární dynamický rozsah do (mg/l)	0,5	1,0
Pracovní rozsah (mg/l)	2,5	100

4.2 Atomová emisní spektrometrie (AES)

Při měření v režimu AES bylo nejprve nutné nastavit vhodný rozsah měřených intenzit emise. Pro toto nastavení byl vždy analyzován roztok maximální koncentrace (pro vhodné nastavení vlnové délky emitovaného záření a jeho intenzity) a následně roztok blanku. Byly provedeny kalibrace na maximální koncentrace 100, 10 a 1,0 mg/l hořčíku. Následně byly porovnávány signály a směrodatné odchylky těchto signálů vždy pro 10x zředěné roztoky. Jako vhodnou koncentraci pro kalibraci pracovního roztahu spektrometru se na základě tohoto porovnání ukázala být koncentrace hořčíku. Toto nastavení pak bylo rutinně opakováno.

4.2.1 Optimalizace podmínek měření

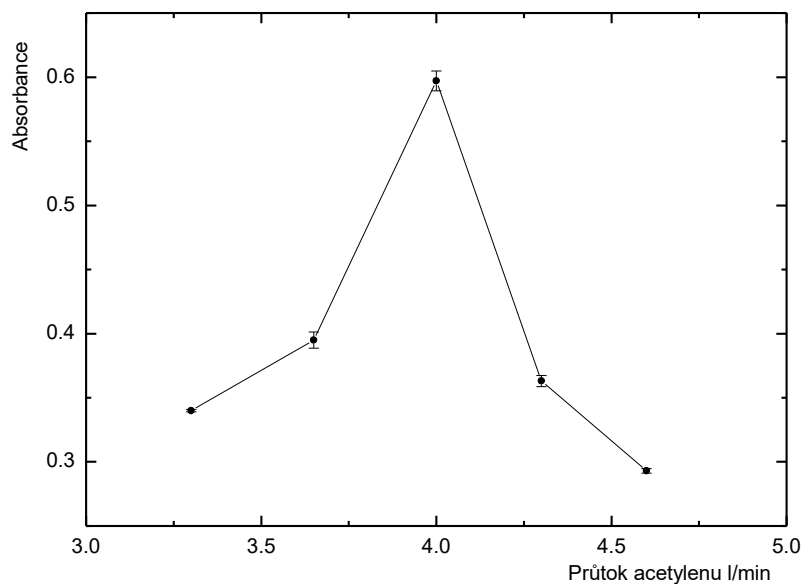
Pro optimalizaci stanovení AES byl použit roztok o koncentraci 10,0 mg/l hořčíku. Prvním proměřovaným parametrem byla optimální výška paprsku nad horní hranou hořáku. Během třech měření byla zaznamenávána průměrná hodnota signálu při 2; 3; 4; 5; 6; 7 a 8 mm stupnice při zvolené průtokové rychlosti paliva 4,6 l/min. Nejvyšší signál byl registrován při hodnotě 6 mm stupnice. Získaná data byla graficky zpracována na Obr. 4.7.



Obr. 4.7 Závislost průměrné hodnoty signálu na změně výšky paprsku nad hranou hořáku.

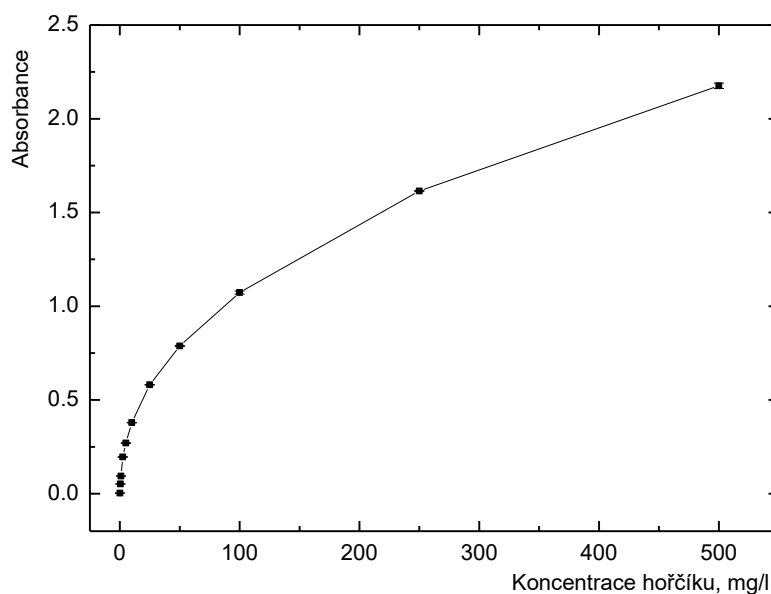
Dalším proměřovaným parametrem bylo zjištění optimálního průtoku paliva. Během třech měření byla zaznamenávána průměrná hodnota signálu při průtokové rychlosti paliva

3,3; 3,65; 4,0; 4,3 a 4,6 l/min. Nejvyšší signál byl registrován při průtokové rychlosti paliva 4,3 l/min. Získaná data byla graficky zpracována na Obr. 4.8.



Obr. 4.8 Závislost průměrné hodnoty absorbance na změně průtokové rychlosti paliva.

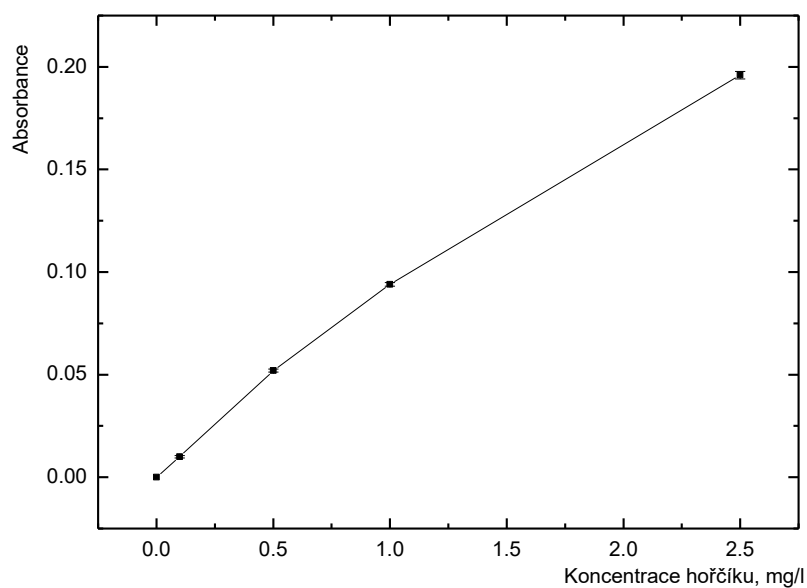
Po zjištění těchto optimálních hodnot byly příslušné parametry nastaveny pro všechna další měření. Šířka spektrálního intervalu byla nastavena na hodnotu 0,2 a hořák byl použit ve vodorovné orientaci k paprsku (0°). Dále byla po nastavení zjištěných optimálních parametrů proměřena sada kalibračních roztoků o koncentraci hořčíku: 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10; 25; 50; 100; 250 a 500 mg/l. Získaná data byla graficky zpracována na Obr. 4.9.



Obr. 4.9 Závislost průměrné hodnoty absorbance na koncentraci hořčíku.

4.2.2 Základní charakteristiky

Pro stanovení základních charakteristik použité metody byla použita kalibrační závislost standardních roztoků o koncentracích 2,5 mg/l; 5,0 mg/l; 10 mg/l a 25 mg/l hořčíku, přičemž byla použita její lineární část. Mez detekce (LOD) byla spočtena jako trojnásobek směrodatné odchylky $10\times$ měřeného roztoku 5 mg/l a mez stanovitelnosti (LOQ) byla spočtena jako desetinásobek směrodatné odchylky $10\times$ měřeného roztoku 5 mg/l. Použitá kalibrační závislost je graficky zpracována na Obr. 4.10. Základní charakteristiky jsou shrnuty v tabulce 4.2.



Obr. 4.10 Kalibrační závislost průměrné hodnoty signálu na koncentraci hořčíku - lineární část.

Tab. 4.2 Shrnutí základních charakteristik pro metodu stanovení AES.

Charakteristika	Hodnota
Mez detekce ($\mu\text{g/l}$)	19,4
Mez stanovitelnosti (mg/l)	64,8
Citlivost (l/mg)	0,0813
Opakovatelnost %	0,20
Korelační koeficient	0,9859
Lineární dynamický rozsah do (mg/l)	2,5
Pracovní rozsah (mg/l)	250

4.3 Stanovení hořčíku ve vzorcích potravinových doplňků

4.3.1 Metoda AAS

Po zjištění všech uvedených parametrů následovalo měření roztoků vzorků, jejichž příprava je popsána v kapitole 3.2. Naměřené hodnoty koncentrací včetně relativních směrodatných odchylek byly vypočteny pomocí ovládacího softwaru, který byl připojen ke spektrometru. Měření bylo prováděno dvěma způsoby.

Prvním způsobem bylo měření roztoků vzorků provedeno bez přidavku pomocných činidel. Jako kalibrační roztoky byly použity standardy o koncentraci hořčíku: 2,5; 5,0 ; 10 a 25 mg/l. Jako slepý vzorek byla použita deionizovaná voda. Zjištěné koncentrace hořčíku (mg/l) byly stanoveny v roztocích vzorků, které byly 100× zředěné. Tablety byly rozpuštěny ve 100 ml rozpouštědla. Pro výpočet obsahu hořčíku (mg) v tabletách bylo nutné započítat ředění vzorku a přípravu roztoků obsahujících rozpuštěnou tabletu. Výpočet byl u všech vzorků proveden již analogickým způsobem. Přepočtený obsah hořčíku ve všech analyzovaných tabletách je uveden v tabulce 4.3.

Tab. 4.3 Experimentálně zjištěné množství analytu v tabletách a deklarované množství analytu výrobcem.

Název vzorku	Zjištěné množství hořčíku v tabletě [mg]	Deklarované množství hořčíku v tabletě [mg]
Calibrium 50 Plus	84,3 ± 0,28	80,0
Centrum s multi-efektem	93,1 ± 0,20	100,0
Magnesii lactici	52,7 ± 0,14	51,0
Spektrum 50+	6,9 ± 0,05	neuvedeno
Supradyn	48,8 ± 0,38	45,0
Hemofin	185,4 ± 0,52	200,0

Druhým způsobem bylo měření roztoků vzorků s přidavkem pomocných činidel. Jako kalibrační roztoky byly použity standardy o koncentraci hořčíku: 2,5; 5,0; 10 a 25 mg/l. Jako slepý vzorek byla použita deionizovaná voda. Zjištěné koncentrace hořčíku (mg/l) byly stanoveny v roztocích vzorků, které byly 100× zředěné. Tablety byly rozpuštěny ve 100 ml rozpouštědla. Pro výpočet obsahu hořčíku (mg) v tabletách bylo

nutné započítat ředění vzorku a přípravu roztoků obsahujících rozpuštěnou tabletu. Výpočet byl proveden analogickým způsobem jako při měření vzorků bez přídavku pomocných činidel. Přepočtený obsah hořčíku ve všech analyzovaných tabletách je uveden v tabulce 4.4.

Tab. 4.4 Experimentálně zjištěné množství analytu v tabletách a deklarované množství analytu výrobcem.

Název vzorku	Zjištěné množství hořčíku v tabletě [mg]	Deklarované množství hořčíku v tabletě [mg]
Calibrum 50 Plus	$87,4 \pm 0,24$	80,0
Centrum s multi-efektem	$95,1 \pm 0,58$	100,0
Magnesii lactici	$49,2 \pm 0,28$	51,0
Spektrum 50+	$3,1 \pm 0,05$	neuvedeno
Supradyn	$44,4 \pm 0,16$	45,0
Hemofin	$194,2 \pm 0,80$	200,0

4.3.2 Metoda AES

Po zjištění všech uvedených parametrů následovalo měření roztoků vzorků, jejichž příprava je popsána v kapitole 3.2. Naměřené hodnoty koncentrací včetně relativních směrodatných odchylek byly vypočteny pomocí ovládacího softwaru, který byl připojen ke spektrometru. Měření bylo prováděno dvěma způsoby.

Prvním způsobem bylo měření roztoků vzorků bez přídavku pomocných činidel. Jako kalibrační roztoky byly použity standardy o koncentraci hořčíku: 2,5; 5,0; 10 a 25 mg/l. Jako slepý vzorek byla použita deionizovaná voda, jako standard zastupující maximální koncentraci 100 mg/l. Zjištěné koncentrace hořčíku (mg/l) byly stanoveny v roztocích vzorků, které byly 100× zředěné. Tablety byly rozpuštěny ve 100 ml rozpouštědla. Pro výpočet obsahu hořčíku (mg) v tabletách bylo nutné započítat ředění vzorku a přípravu roztoků obsahujících rozpuštěnou tabletu. Výpočet byl u všech vzorků proveden již analogickým způsobem. Přepočtený obsah hořčíku ve všech analyzovaných tabletách je uveden v tabulce 4.5.

Tab. 4.5 Experimentálně zjištěné množství analytu v tabletách a deklarované množství analytu výrobcem.

Název vzorku	Zjištěné množství hořčíku v tabletě [mg]	Deklarované množství hořčíku v tabletě [mg]
Calibrum 50 Plus	$75,0 \pm 1,67$	80,0
Centrum s multi-efektem	$87,0 \pm 0,69$	100,0
Magnesii lactici	$50,4 \pm 0,34$	51,0
Spektrum 50+	$6,4 \pm 0,15$	neuvedeno
Supradyn	$47,8 \pm 0,57$	45,0
Hemofin	$178,6 \pm 0,02$	200,0

Druhým způsobem bylo měření roztoků vzorků s přidavkem pomocných činidel. Jako kalibrační roztoky byly použity standardy o koncentraci hořčíku: 2,5; 5,0; 10 a 25 mg/l. Jako slepý vzorek byla použita deionizovaná voda, jako standard zastupující maximální koncentraci 100 mg/l. Zjištěné koncentrace hořčíku (mg/l) byly stanoveny v roztocích vzorků, které byly 100× zředěné. Tablety byly rozpuštěny ve 100 ml rozpouštědla. Pro výpočet obsahu hořčíku (mg) v tabletách bylo nutné započítat ředění vzorku a přípravu roztoků obsahujících rozpuštěnou tabletu. Výpočet byl proveden analogickým způsobem jako při měření vzorků bez přidavku pomocných činidel. Přepočtený obsah hořčíku ve všech analyzovaných tabletách je uveden v tabulce 4.6.

Tab. 4.6 Experimentálně zjištěné množství analytu v tabletách a deklarované množství analytu výrobcem.

Název vzorku	Zjištěné množství hořčíku v tabletě [mg]	Deklarované množství hořčíku v tabletě [mg]
Calibrum 50 Plus	$79,1 \pm 0,24$	80,0
Centrum s multi-efektem	$90,5 \pm 0,58$	100,0
Magnesii lactici	$51,7 \pm 0,28$	51,0
Spektrum 50+	$8,0 \pm 0,05$	neuvedeno
Supradyn	$53,5 \pm 0,16$	45,0
Hemofin	$212,7 \pm 0,80$	200,0

4.3.3 Shrnutí a porovnání výsledků

Při stanovení hořčíku pomocí AAS a AES byly aplikovány dva způsoby měření. Prvním způsobem bylo měření vzorků bez přidavku pomocných činidel a druhým způsobem s jejich přidavkem. Zjištěné výsledky metodou AAS byly shrnuty do tabulky 4.7 a metodou AES byly shrnuty do tabulky 4.8.

Tab. 4.7 Porovnání stanoveného obsahu hořčíku v tabletách metodou AAS s přidavkem a bez přidavku pomocných činidel.

Vzorek	Stanovený obsah hořčíku [mg/tbl]		Deklarovaný obsah [mg/tbl]
	bez přidavku	s přidavkem	
Calibrium 50 Plus	84,3 ± 0,28	87,4 ± 0,24	80,0
Centrum s multi-efektem	93,1 ± 0,20	95,1 ± 0,58	100,0
Magnesii lactici	52,7 ± 0,14	49,2 ± 0,28	51,0
Spektrum 50+	6,9 ± 0,05	3,1 ± 0,05	neuvedeno
Supradyn	48,8 ± 0,38	44,4 ± 0,16	45,0
Hemofin	185,4 ± 0,52	194,2 ± 0,80	200,0

Tab. 4.8 Porovnání stanoveného obsahu hořčíku v tabletách metodou AES s přidavkem a bez přidavku pomocných činidel.

Vzorek	Stanovený obsah hořčíku [mg/tbl]		Deklarovaný obsah [mg/tbl]
	bez přidavku	s přidavkem	
Calibrium 50 Plus	75,0 ± 1,67	79,1 ± 0,24	80,0
Centrum s multi-efektem	87,0 ± 0,69	90,5 ± 0,58	100,0
Magnesii lactici	50,4 ± 0,34	51,7 ± 0,28	51,0
Spektrum 50+	6,4 ± 0,15	8,0 ± 0,05	neuvedeno
Supradyn	47,8 ± 0,57	53,5 ± 0,16	45,0
Hemofin	178,6 ± 0,02	212,7 ± 0,80	200,0

Z výsledků je zřejmé, že zjištěný obsah hořčíku v tabletách byl u některých vzorků po přidavku pomocných činidel vyšší než bez jejich přidavku. Vzhledem k charakteru vzorků a jejich různorodé matici se u měřených roztoků vzorků mohly vyskytnout

ionizační a chemické interference. Přídavkem vhodných pomocných činidel došlo tak k jejich korekci, a naměřené hodnoty signálů a ve výsledku obsahu hořčíku se zvýšily.

Naměřené hodnoty obsahu hořčíku v potravinových doplncích se při stanovení AAS i AES velmi blížily hodnotám deklarovaným výrobcem. V některých případech byl naměřen obsah hořčíku vyšší, než jaký byl deklarován výrobcem. Pochopitelně je nutné brát v potaz již zmíněnou různorodost matrice u potravinového doplňku, která může být příčinou naměřeného vyššího obsahu hořčíku. Důkazem toho může být vzorek Spektrum 50+, ve kterém není výrobcem deklarován žádný obsah hořčíku, a nepatrný obsah byl stejně naměřen. Naopak není vyloučeno, aby toto nepatrné množství potravinový doplněk obsahoval, aniž by bylo zmíněno na příbalovém letáku od výrobce.

Metodami AAS a AES byl naměřen obsah hořčíku, který se velmi shodoval s obsahem deklarovaným výrobcem na obalu. Obě metody se dají tedy pokládat za vhodné pro tento druh stanovení.

5 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo stanovit obsah hořčíku ve vybraných potravinových doplncích. Pro stanovení byly vybrány dvě analytické metody. První metodou byla atomová absorpční spektrometrie a druhou metodou byla atomová emisní spektrometrie.

Prvním z bodů náplně práce bylo najít vhodný způsob převedení potravinových doplňků do roztoku tak, aby došlo k jejich úplnému rozpuštění. Byly vyzkoušeny tři postupy – rozpuštění v deionizované vodě za laboratorní teploty, rozpuštění v deionizované vodě za horka a rozpuštění ve zředěné kyselině za horka. Po měření všech roztoků pomocí obou metod bylo zjištěno, že jako nejvhodnější způsob při tomto stanovení je rozpuštění potravinového doplňku ve zředěné kyselině za horka.

Po vhodné přípravě roztoků vzorků následovalo zjištění optimálních podmínek měření pro obě metody. Mezi zjišťovanými optimálními parametry byla především výška paprsku nad hranou hořáku a průtoková rychlost paliva. Dále byla zjišťována optimální šířka spektrálního intervalu či optimální orientace hořáku při měření a byly stanoveny základní charakteristiky použitých metod.

Stanovené obsahy hořečnatého kationtu byly ve výsledkové části bakalářské práce vzájemně porovnány. Z naměřených hodnot vyplynulo, že zjištěný obsah hořčíku byl vyšší, pokud se k roztokům přidala pomocná činidla, která potlačují ionizační a chemickou interferenci. Naměřené hodnoty obsahu hořečnatého kationtu metodami AAS a AES se převážně shodovaly s hodnotami deklarovanými výrobcem. Obě použité metody se tedy dají pokládat za vhodné při stanovení hořčíku v potravinovém doplňku.

Závěrem lze konstatovat, že všechny vytyčené cíle bakalářské práce byly úspěšně splněny.

6 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Greenwood, N.N., Earnshaw A. *Chemie prvků*. Praha: Informatorium, 1993 překlad F. Jursík a kol.
- [2] West J.B. *Joseph Black, carbon dioxide, latent heat, and the beginnings of the discovery of the respiratory gases*. American Journal of Physiology, 306 (2014) L1057-L1063
- [3] Jursík, F. *Anorganická chemie kovů*. Praha, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2002. ISBN 80-708-0504-8
- [4] Schneiderka, P. *Kapitoly z klinické biochemie*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha, Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0678-X
- [5] Hořčík. *Periodická tabulka* [online]. [cit. 2017-05-08]. Dostupné z: <http://www.prvky.com/12.html>
- [6] Vojtěch, D., Knotek, V., Čapek, J., Kubásek, J. *Magnesium - The Metal for Medicine and for Hydrogen Storage*, Chemické listy 105 (2011) 678-683
- [7] *Potraviny určené pro zvláštní výživu, doplňky stravy a přístup SZPI k jejich kontrole*. Státní zemědělská a potravinářská inspekce, 2015
- [8] Schneiderka, P. *Vybrané kapitoly z klinické biochemie* [online]. [cit. 2017-05-08]. Dostupné z: <http://www.zivavoda.cz/files/dokumenty/vybrane-kapitoly-z-klinicke-biochemie.pdf>
- [9] Jak hořčík prospívá. *Magnesium* [online]. [cit. 2017-05-16]. Dostupné z: <http://www.magnesium.cz/jak-horcik-prospiva2/>
- [10] Záruba, K. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-950-1
- [11] Opekar, F. *Základní analytická chemie*. Praha: Karolinum, 2003. ISBN 978-80-246-0553-1
- [12] Stevens, B.J., Hare, D.J., Volitakis, I, Cherny, R.A., Roberts, B.R. *Direct determination of zinc in plasma by graphite furnace atomic absorption spectrometry using palladium/magnesium and EDTA matrix modification with high temperature pyrolysis*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry 32 (2017) 843-847
- [13] EDTA magnesium disodium. In: *LookChem* [online]. [cit. 2017-05-16]. Dostupné z: <http://www.lookchem.com/EDTA-magnesium-disodium/>
- [14] Klouda, P. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 978-80-86369-07-5
- [15] Kašička, V. *Theoretical bases and separation principles of capillary electromigration methods*, Chemické listy 91 (1997) 320-329

- [16] Fluorimetrie. *Lékopis* [online]. [cit. 2017-05-16]. Dostupné z: http://www.lekopis.cz/Kap_2_2_21.htm
- [17] FONS: *Příručka laboratorních vyšetření, hořčík* [online]. [cit. 2017-05-16]. Dostupné z: <http://www.katalogfons.cz/Produkty/4ED1C068-AE02-4E6F-987F-396C242EB809>
- [18] Záruba, K. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-951-8
- [19] Arslan, Z., Tyson, J.F. *Determination of calcium, magnesium and strontium in soils by flow injection flame atomic absorption spectrometry*, Talanta 50 (1999) 929-937
- [20] Kuban, V., Komarek, J., Cajkova, D., Zdrahal, Z. *Determination of magnesium by flame AAS detection with flow-injection analysis*, Chemical Papers 44 (1990) 339-346
- [21] Gottelt, U, Henrion, G, Kalahne, R, Stoyke, M. *Simultaneous determination of the elements copper, zinc, iron and manganese as well as sodium, potassium, calcium and magnesium by flame atomic absorption spectrometry (F-AAS)*, Nahrung-Food 40 (1996) 313-318
- [22] DeAlmeida, MD, Leandro, KC, DaCosta, CV, Santelli, REDelaGuardia, M. *Flow injection microwave-assisted dissolution of silicate rocks for magnesium determination by flame atomic absorption spectrometry*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry 12 (1997) 1235-1238
- [23] Ozkan, MH, Akcay, M. *Determination of calcium, magnesium and aluminium in magmatic rocks after ultrasonic leaching by flame AAS*, Turkish Journal of Chemistry 26 (2002) 711-724
- [24] Sugimoto, F, Isono, T, Komurasaki, K. *The simplified determination of magnesium in water by calcium carbonate coprecipitation-flame atomic absorption spectrometry*, Nippon Kagaku Kaishi 2 (2002) 175-181
- [25] Bugallo, R.A., Segade, S.R., Gomez, E.F. *Comparison of slurry sampling and microwave-assisted digestion for calcium, magnesium, iron, copper and zinc determination in fish tissue samples by flame atomic absorption spectrometry*, Talanta 72 (2007) 60-65
- [26] Němcová, I., Rychlovský, P., Čermáková, L. *Spektrometrické analytické metody*. Praha: Karolinum, 1998. ISBN 80-718-4365-2
- [27] Wang, L.P., Li H.J., Dong Y.P., Peng J.Y., Feng, H.T. Li, W. *Determination of trace elements in salt lake brines using inductively coupled plasma optical emission spectrometry after magnesium hydroxide precipitation*, Analytical Methods 7 (2015) 8235-8240
- [28] Liu, X.W., Cui, S.J. *Determination of total quantity of rare earths, Ca, Mg, Mn and Fe in rare-earths-magnesium by ICP-AES with offset profile add lines*, Spectroscopy and Spectral Analysis 22 (2002) 838-839